

**Univerzita Karlova v Praze**

**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



**Vojtěch Duchoslav**

Role bakterií při přeměnách silikátových minerálů v prostředí neutrálního pH

Bacterial role in silicate mineral alteration in near-neutral pH conditions

Bakalářská práce

Školitel: Mgr. Lukáš Falteisek

Praha, 2012

## **Poděkování:**

Velký dík za odborné vedení a dlouhé rozhovory nejen o geomikrobiologii patří mému školiteli Lukáši Falteiskovi, který je nevyčerpatelným zdrojem originálních myšlenek, a Máří Mikšaníkové, která Lukáše udržovala v dobré náladě.

Rovněž děkuji rodičům za to, že mě splodili právě v tuto dobu, kdy se geomikrobiologie bouřlivě rozvíjí a převratné objevy jsou na spadnutí.

## **Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 13. 5. 2012

Vojtěch Duchoslav

## **Abstrakt**

Víme, že bakterie jsou schopné urychlovat rozpouštění silikátových minerálů. Rozkladem získávají buď substráty pro svůj energetický metabolismus a v takovém případě provádějí redoxní přeměny, nebo ze silikátů získávají minerální živiny, které nejsou v dostupnější formě přítomné. Při mikrobiálním rozkladu silikátů se uplatňují především mechanismy lokální kyselé či zásadité katalýzy a povrchové komplexace. Dobývanými minerálními živinami mohou být K, Mg, P, Fe, apod. Prakticky jediným využitelným energetickým substrátem je železo. Zatím co při získávání železa jako esenciální živiny jsou využitelná extrémně silná komplexační činidla (tzv. siderofory), pro energetické využití je nutné železo získávat slabšími komplexanty, nebo jej redukovat přímo v krystalové mřížce např. pomocí elektricky vodivých nanovláken. Na rozdíl od sulfidů není běžné oxidativní rozpouštění silikátů chemoautotrofními organismy. Bakteriální rozpouštění silikátů sice zanechává morfologické i geochemické stopy, ale neumíme je zatím jednoznačně rozeznat a interpretovat. Ačkoli víme, že jsou bakterie schopné rozpouštět téměř všechny hlavní horninotvorné minerály v nejrůznějších podmínkách, nejsme schopni jejich podíl kvantifikovat. Tato fundamentální otázka, která se úzce týká globálních cyklů prvků, představuje jednu z hlavních výzev pro současnou geomikrobiologii.

### **Klíčová slova:**

silikáty, bakteriální zvětrávání, siderofory, biogeochemie, minerální výživa, mikrobiální konsorcia

## **Abstract**

It is well established that bacteria are able to catalyze dissolution of silicate minerals. Bacteria may dissolve silicates for two different purposes. They may use certain elements that can undergo redox transitions as substrates for their energetic metabolism or they can leach nutrients, that are otherwise inaccessible in their habitat. The main mechanisms of bacterially mediated silicate leaching are acidic or basic catalysis and surface complexation. The main nutrients extracted are K, Mg, P and Fe. The only element significantly exploited as substrate for dissimilative energetic metabolism is iron. In order to leach iron as a nutrient, even extremely strong complexants (i.e. siderophores) may be employed. However, only moderate complexing agents can serve to obtain iron as terminal electron acceptor. The second possibility is to reduce iron directly in the crystal grid by means of the conductive nanofibres. The oxidative dissolution of silicates by chemoautotrophs is rare, in contrast to that of sulfides. Bacterial dissolution of silicates leaves morphological and geochemical signatures, but it is still problematic to recognize and interpret them. Although it is well-known that bacteria can dissolve most of the rock-forming minerals in diverse environments we are unable to quantify their contribution to the whole process. This fundamental question intimately related to global cycles of elements is one of the main challenges for contemporary geomicrobiology.

## **Key words:**

silicates, bacterial weathering, siderophores, biogeochemistry, biosignatures, mineral nutrients, microbial consortia

# **Obsah**

Abstrakt.....	3
1. Úvod .....	6
2. Proč? ...příčiny bakteriálních přeměn silikátů .....	7
2.1. Silikáty součástí energetického metabolismu .....	7
2.2. Silikáty zdrojem důležitých živin .....	8
3. Jak? ...mechanismy bakteriálních přeměn silikátů .....	9
3.1. Rozpouštění.....	9
3.1.1. Rovnovážné rozpouštění .....	10
3.1.2. Nerovnovážné rozpouštění .....	10
3.1.3. Rozlišení rovnovážného a nerovnovážného rozpouštění.....	10
3.2. Srážení.....	11
3.3. Ovlivňování fyzikálně chemických poměrů .....	13
3.3.1. pH .....	13
3.3.1.1. Kyselá katalýza .....	13
3.3.2. Komplexace .....	14
3.3.3. Redoxní přeměny .....	15
3.3.3.1. Oxidativní rozpouštění (viz Obr. 6).....	15
3.3.3.2. Reduktivní rozpouštění .....	16
3.3.3.2.1. Disimilativní redukce $\text{Fe}^{3+}$ .....	17
3.4. <i>Paenibacillus mucilaginosus</i> .....	18
4. Jak se to pozná? ...stopy bakteriálních přeměn silikátů .....	18
4.1. Morfologie minerálu .....	18
4.1.1. Fosilie .....	18
4.1.2. Mikrobiálně indukované sedimentární struktury (MISS) .....	19
4.1.3. Leptové jamky .....	19
4.2. Izotopová frakcionace .....	21
4.3. Problém měřítek .....	22
5. Závěr.....	23
6. Literatura.....	25

# **1. Úvod**

Země se v současné době může chlubit přibližně 4650 druhy minerálů a každý rok je popsáno asi 50 nových (<http://rruff.info/ima>). Tato obrovská minerální diverzita však vznikala postupně. Rozmanitost minerálů na povrchu Země, stejně jako jejich relativní zastoupení, se v průběhu více než  $4,5 \cdot 10^9$  let od vzniku planety dramaticky vyvíjí prostřednictvím fyzikálních, chemických a v posledních  $2,5 \cdot 10^9$  let také biologických procesů (Hazen et al., 2008). Velká většina minerální diverzity je přítomna ve svrchních 3 km zemské kůry a podle všeho není náhodou, že tato hodnota velmi dobře odpovídá maximální hloubce, dosažitelné pro mikrobiální formy života.

Zdá se, že taková míra diverzity minerálů je při nejmenším v rámci blízkých vesmírných těles ojedinělá a vděčíme za ni z velké části právě přítomnosti života na Zemi. Procesy v živých organismech ustanovily na Zemi lokální i globální gradienty (Hinsinger et al., 2006), které přinášejí vhodné reakční podmínky pro vznik nových minerálů. Vznik minerálů je veden minimalizací volné energie v různých kombinacích teploty, tlaku a chemického složení. V živých systémech může být vznik nových minerálů katalyzován ve velmi malých objemech, které umožňují, díky bariérám typu buněčných membrán či biofilmu, lokální nastolení extrémních hodnot Eh, pH a koncentrací rozpuštěných látek, jež by abioticky v daném prostředí nemohly vzniknout (Hazen et al., 2008).

Mikroorganismy mají velký vliv na mnoho geologických procesů a velkou měrou řídí distribuci látek ve svrchní litosféře, hydrosféře i atmosféře (H Ehrlich, 1998). Dodnes je převážnou částí odborné veřejnosti fenomén bakteriálně indukovaných geologických změn považován za raritní jev, ačkoli současná míra poznání jasně ukazuje, že jde o jev, který probíhá dnes a denně po celé Zemi od antarktických pouští, přes horké podmořské prameny a babiččin dvorek až po sochy na Karlově mostě.

Nejlépe prozkoumanou interakcí mikrobů s mineály je kyselé rozpouštění sulfidů autotrofními bakteriemi, které se průmyslově používá k vyluhování mědi, uranu, zlata apod. z jejich rud. První objevené bakteriální rozpouštění minerálu byla oxidace pyritu (Colmer, Hinkle, 1947). Později byl objeven další velmi významný proces, a to bakteriální zvětrávání křemičitanů a hlinitokřemičitanů v méně extrémních prostředích. To je, zdá se, rozmanitější a méně prozkoumané. Silikáty tvoří přibližně 90–95 % hmoty zemské kůry (Ivanov, Karavaiko, 2004; Amundson et al., 2007), a tak se dá předpokládat, že interakce bakterií se silikáty bude v přírodě daleko rozsáhlejší fenomén než kyselé rozpouštění sulfidů.

A právě shrnutí současných poznatků o bakteriálním zvětrávání silikátových minerálů v běžných podmínkách na zemském povrchu a v malých hloubkách pod ním, mimo extrémní hodnoty pH je cílem této práce. Budu se v ní zabývat interakcí bakterií s běžnými horninotvornými minerály, jako jsou slídy, živce, pyroxeny, amfiboly, chlority a jílové minerály.

## **2. Proč? ...příčiny bakteriálních přeměn silikátů**

Jsou tři možné příčiny, proč se bakterie podílejí na přeměnách minerálů.

- Jedná se o vedlejší produkt jejich metabolismu a nepřináší jim to žádný užitek.
- Využívají minerál jako energetický substrát.
- Uvolňují z minerálu důležité živiny.

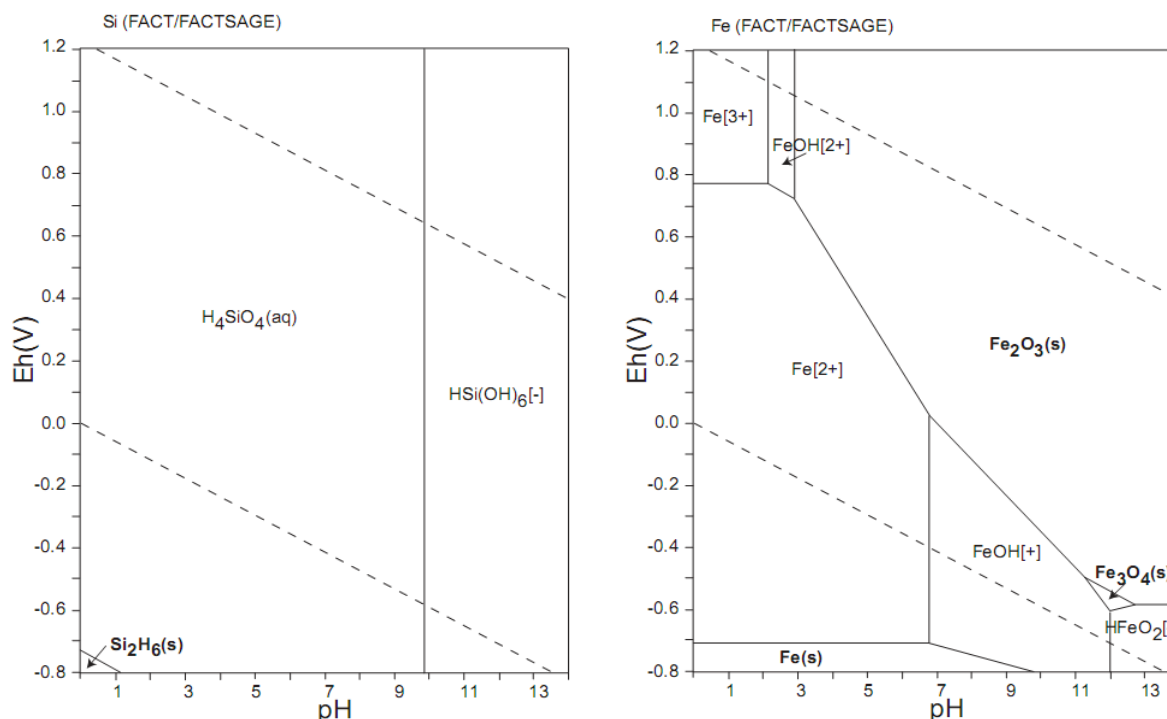
Náhodné rozpouštění je dobrou preadaptací pro rozpouštění cílené. Dá se předpokládat, že náhodné rozpouštění probíhá stejnými mechanismy, jako cílené. Navíc je velmi složité je od sebe odlišit. Například v případě, kdy kyselý produkt fermentace rozpouští minerál a sám se tím neutralizuje, je těžké rozlišit, zda je rozpouštění přidruženým jevem, nebo zda se tímto způsobem bakterie cíleně zbavují zplodin metabolismu. Proto první z výše uvedených příčin nebudu v následujícím textu nijak vyčleňovat.

### **2.1. Silikáty součástí energetického metabolismu**

Silikátové minerály jsou špatným energetickým substrátem. Samotná křemičitanová kostra je v širokém rozmezí pH velmi neochotna podstoupit jakoukoli redoxní reakci a nemůže tedy sloužit jako elektronový donor pro chemolitotrofy, ani jako terminální elektronový akceptor pro anaeroby (Obr. 1).

Energeticky využitelné tedy mohou být jen ionty kovů (železo, mangan apod.), koordinované mezi křemičitanové tetraedry. Železité kationty jsou využitelné jako terminální elektronové akceptory energetického metabolismu železo redukujících bakterií. V přítomnosti kyslíku naopak mohou být  $\text{Fe}^{2+}$  ionty s energetickým ziskem oxidovány na  $\text{Fe}^{3+}$  (viz Obr. 6).

Energetické využití kovových iontů je, zdá se, v případě bakteriálního rozkladu silikátů jen minoritním benefitem, neboť pro jejich získání je nutné rozpustit i křemičitanovou kostru minerálu a energetický zisk z celého procesu už není jednoznačný (viz kapitolu 3.3.3.2.1).



Obr. 1: Eh-pH diagramy Si a Fe

Pourbaixovy (Eh-pH) diagramy systémů Si-O-H a Fe-O-H.  $\Sigma\text{Si}=10^{-10}$  mol/kg,  $\Sigma\text{Fe}=10^{-10}$  mol/kg, 298.15 K,  $10^5$  Pa. Teoretické hodnoty, vypočítané z dat termodynamické databáze FACT. Tučně jsou vyznačeny pevné fáze (disilan, hematit, magnetit a kovové železo). Přerušované čáry vymezují oblast stability vody (nad ní se voda oxiduje na  $\text{O}_2$  a pod ní redukuje na  $\text{H}_2$ ). (Takeno, 2005)

Křemičitan v téměř celém rozsahu diagramu nepodstupuje žádné redoxní reakce. Kdežto redoxní pár  $\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$  má za neutrálního pH redukční potenciál blízky nule. Může tedy v závislosti na redukčním potenciálu prostředí hrát roli terminálního elektronového akceptoru či elektronového donoru.

## 2.2. Silikáty zdrojem důležitých živin

V prostředí, kde je růst mikrobiálního společenstva limitován dostupností nějaké živiny (např. N, P, K, Fe, ...), která je zároveň přítomna v okních minerálech, získávají jednoznačnou konkurenční výhodu mikroorganismy, které jsou schopny ji vydobýt z krystalové mřížky a solubilizovat. Tím zvyšují životaschopnost celého společenstva (Bennett et al. 2001).

Po této úvaze je nasnadě, že rozpouštění minerálů je mikrobiálně nejvíce urychlované právě v případech, kdy daný minerál obsahuje živinu, jež je v prostředí limitující, jak dokládají výsledky různých kultivačních experimentů (Rogers, Bennett, 2004; Sheng, He, 2006; Liu et al., 2006; Bailey et al., 2009).

Rychlost rozpouštění konkrétního minerálu je tedy závislá na mnoha parametrech, včetně kontextu dostupných živin a složení mikrobiálního společenstva. Tato skutečnost může velmi zamíchat pořadím minerálů v klasickém žebříčku stability (Bennett et al., 2001). Žebříček stability silikátových minerálů za zcela abiotických podmínek reprezentuje Tab. 1. V případě biotického rozpouštění, vzhledem k množství parametrů, nelze minerály podle stability na obecné úrovni seřadit.



Jednotlivé bakteriální druhy se specializují na různé dílčí funkce v procesu dobývání živin z konkrétního minerálu a rozpouštění jiného minerálu urychlují méně, nebo vůbec (Liu et al., 2006; Song et al., 2007). O takových adaptacích na jednotlivé minerály svědčí fakt, že druhové složení mikrobiálního společenstva je specifické pro specifický typ minerálu, jak vyvozují (Hutchens et al., 2010), kteří analyzovali mikrobiální společenstva na krystalech draselného živce, slídy a křemene, sebraných z jedné pegmatitové žíly z míst vzdálených od sebe 2 až 10 m. Do jaké míry je tato specifická diverzita znatelná v menších měřítkách, není jisté (viz kapitulu 4.3.).

**Tab. 1: Žebříček stability silikátových minerálů v abiotickém prostředí**

Převzato od Brantley (2003). Pořadí je určeno střední dobou života v letech 1mm krystalu v podmínkách pH 5.

1 křemen	$\text{SiO}_2$	34 000 000
2 draselný živec	$\text{KAlSi}_3\text{O}_8$	740 000
3 muskovit (draselná slída)	$\text{KAl}_2(\text{AlSi}_3\text{O}_{10})(\text{F},\text{OH})_2$	720 000
4 flogopit (hořečnatá slída)	$\text{KMg}_3(\text{AlSi}_3\text{O}_{10})(\text{F},\text{OH})_2$	670 000
5 albit	$\text{NaAlSi}_3\text{O}_8$	500 000
6 diopsid	$\text{MgCaSi}_2\text{O}_6$	140 000
7 anortit	$\text{CaAl}_2\text{Si}_2\text{O}_8$	80 000
8 enstatit	$\text{MgSiO}_3$	16 000
9 tremolit	$\text{Ca}_2\text{Mg}_5\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})_2$	10 000
10 forsterit	$\text{Mg}_2\text{SiO}_4$	2 000
11 fayalit	$\text{Fe}_2\text{SiO}_4$	1 900

### **3. Jak? ...mechanismy bakteriálních přeměn silikátů**

#### **3.1. Rozpouštění**

Možnosti ovlivňování reakční rychlosti se odvíjejí od povahy dané reakce. Rozpouštění minerálů je obecně komplexní chemickou reakcí, sestávající ze sledu elementárních reakcí. Pojem elementární reakce označuje jeden krok reakčního mechanismu, pro který platí, že probíhá na molekulární úrovni přesně, jak je zapsán. Reakční mechanismus komplexní chemické přeměny pak představuje sekvenci elementárních reakcí. Rychlost celého procesu určuje nejpomalejší z dílčích elementárních reakcí (Brantley, 2003).

S malým zobecněním se dají rozpouštěcí reakce minerálů dělit podle rychlost určujícího kroku na reakce nerovnovážné, limitované rychlostí chemické přeměny na povrchu minerálu a reakce rovnovážné, limitované transportem produktů rozpouštění od povrchu minerálu (Brantley, 2003).

### **3.1.1. Rovnovážné rozpouštění**

V případě rovnovážných reakcí je koncentrace produktů rozpouštění při povrchu minerálu významně vyšší než v okolním roztoku. Rychlost celého procesu není řízena rychlostní konstantou rozpouštěcí reakce na rozhraní minerálu s vodou, nýbrž je závislá na odebrání produktů rozpouštění (Brantley, 2003). Závisí tedy na procesech, které vychylují rovnováhu, a může být zvýšena

- zintenzivněním difuze např. zvýšenou teplotou,
- zrychlením proudění okolního roztoku,
- komplexací produktů rozpouštění (viz kapitolu 3.3.2),
- srážením produktů povrchové reakce a tvorbou sekundárních minerálů (viz kapitolu 3.2).

### **3.1.2. Nerovnovážné rozpouštění**

V případě nerovnovážného rozpouštění je rychlost určujícím krokem přímo reakce na povrchová reakce. Povrchovou reakcí je míněno uvolňování iontů z krystalové mřížky na povrchu minerálu a přechod do roztoku. Koncentrace produktů v těsné blízkosti povrchu minerálu je srovnatelná s koncentrací v okolním roztoku, tudíž zvýšení průtoku okolního roztoku rozpouštění neurychlí (Brantley, 2003).

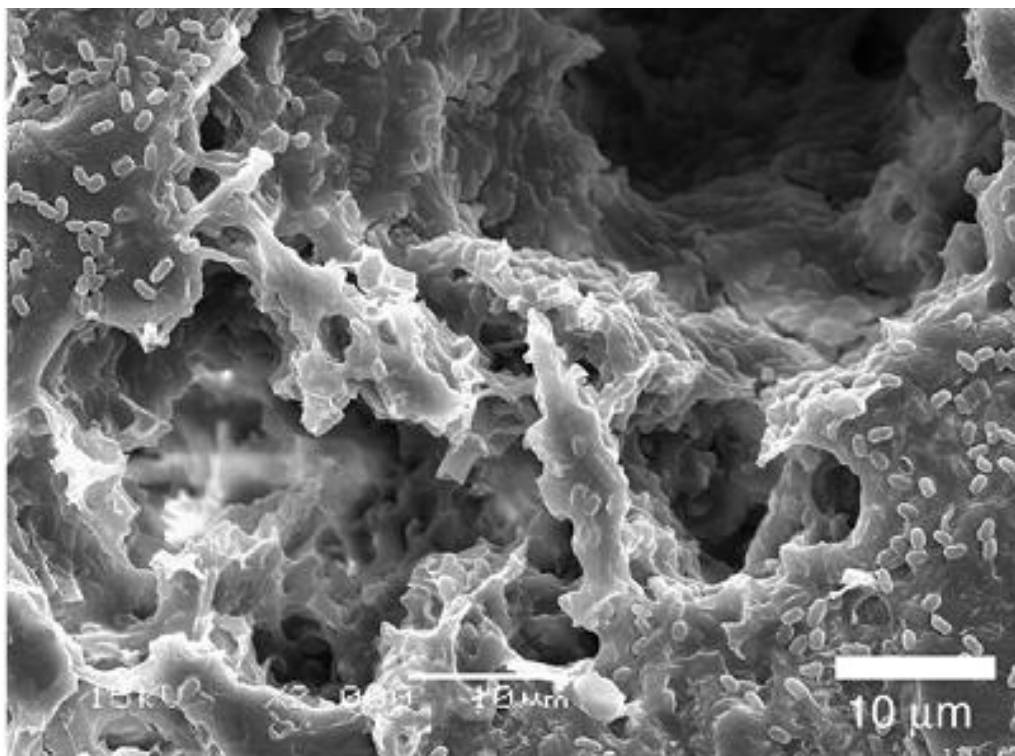
Pro urychlení takového procesu je nutné snížit aktivační energii povrchové reakce. To je možné

- kyselou katalýzou nebo zásaditou katalýzou (viz kapitolu 3.3.1),
- povrchovou komplexací (viz kapitolu 3.3.2).

### **3.1.3. Rozlišení rovnovážného a nerovnovážného rozpouštění**

Možným rozlišovacím znakem mezi rovnovážným a nerovnovážným rozpouštěním jsou jamky vyleptané do povrchu minerálu (viz Obr. 2 a Obr. 9). Pravděpodobnost, že se uvolní iont ze souvislé plochy na povrchu krystalu není velká a dochází k tomu s malou frekvencí. Čím dále od rovnováhy reakce probíhá, tím častěji se vytvoří zárodek jamky, který může dále snadno růst až do značných velikostí (viz Obr. 2). Kdežto při rovnovážném rozpouštění neustále probíhá se srovnatelnou rychlostí také zpětná reakce, která takové zárodky opravuje. Proto se při rovnovážné reakci rozpouštějí přednostně energeticky nejexponovanější místa jako rohy a hrany a krystal získává spíše zaoblený tvar (Dove et al., 2005).

Rozpouštění silikátů je za běžných podmínek nerovnovážné (Brantley, 2003; Balland et al., 2010). Od toho se odvíjí spektrum nástrojů, které bakterie k urychlení rozpouštění používají. S problémy rovnovážného rozpouštění se musejí začít vyrovnávat, teprve když se jim podaří katalýzou povrchové reakce k němu přiblížit (Brantley, 2003).



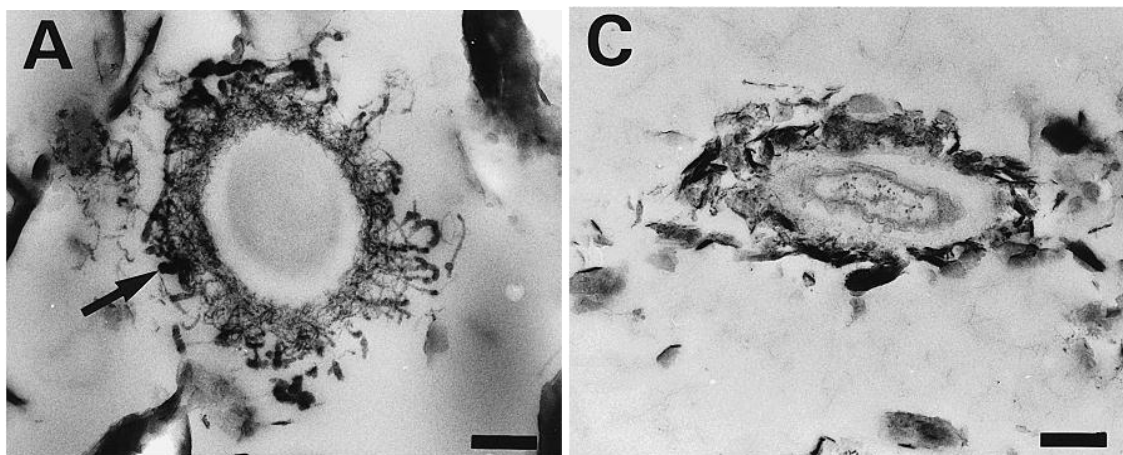
**Obr. 2: Leptové jamky**

*SEM, převzato od Song et al., (2007). Takto rozsáhlé a rozebrané leptové jamky svědčí s největší pravděpodobností o rozpouštění probíhajícím velmi daleko od rovnováhy. Na obrázku je původně rovná plocha zrna plagioklasu, inkubovaného po 30 dní s *Bacillus subtilis*. Na povrchu minerálu jsou zřetelně vidět jednotlivé bakterie.*

### 3.2. Srážení

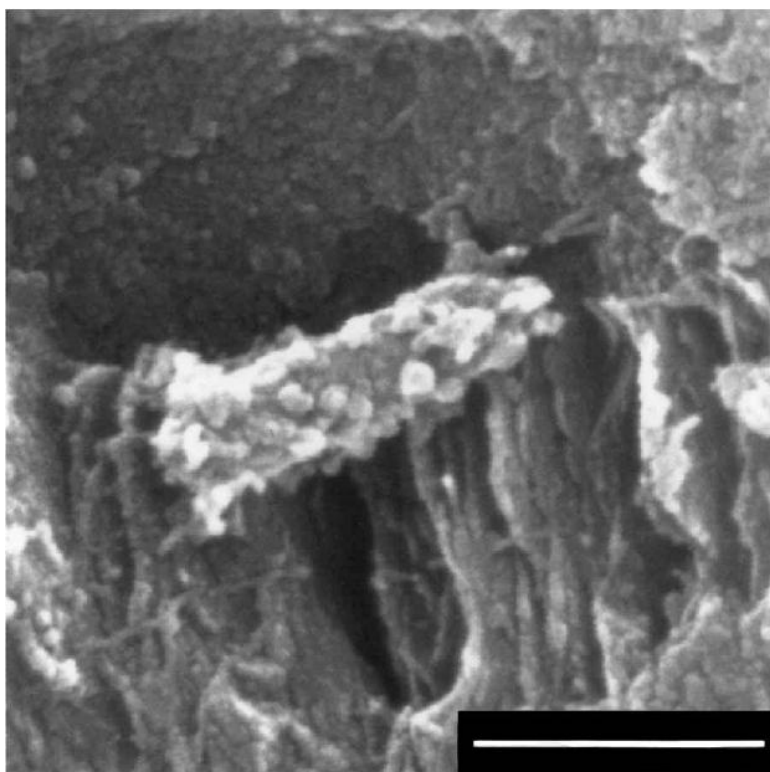
Opětovné srážení nepotřebných produktů rozpouštění je častý způsob, jak se bakterie zbavují nepotřebných produktů rozpouštění, především složek křemičitanové či hlinitokřemičitanové kostry. Tím snižují jejich koncentraci v roztoku a posouvají tak kupředu rovnováhu rozpouštění matečného minerálu. Cíleným srážením odpadních produktů mohou zabránit jejich spontánnímu vysrážení přímo na povrchu rozpouštěného minerálu a tedy i jeho zneprístupnění pro další rozpouštění.

Ke krystalizaci často dochází na buněčné stěně, která může hrát roli templátu (Ehrlich, 1996). Zdá se ale, že bakterie mohou krystalizaci také aktivně urychlovat, jak vyvozují Amores, Warren, (2009) z pokusů porovnávajících krystalizaci  $\text{SiO}_2$  na mrtvých a živých buňkách. Na mrtvých buňkách docházelo k precipitaci v menší míře než na živých. Při silicifikaci buněčné stěny jsou bakterie nuceny udržovat alespoň její část bez inkrustace, aby byly zachovány její fyziologické funkce (Amores, Warren, 2009). Nejběžnějším sekundárním produktem bakteriálního zvětrávání silikátů jsou jílové minerály (Konhauser, Urrutia, 1999; Tuck et al., 2006). Sraženina na povrchu buněk bývá mikroskopicky pozorovatelná (viz Obr. 3 a 4).



**Obr. 3: Srážení jílových minerálů na povrchu bakteriálních buňek**

TEM, převzato od Konhauser, Urrutia, (1999). (A) – scale bar 360 nm, (C) – scale bar 560 nm.



**Obr. 4: Srážení jílových minerálů na povrchu bakteriální buňky**

SEM, převzato od Bennett et al., 2001). Scale bar 1  $\mu\text{m}$ .

### 3.3. Ovlivňování fyzikálně chemických poměrů

#### 3.3.1. pH

Rozpouštění silikátů je nejpomalejší kolem neutrálních hodnot pH. V kyselém prostředí je rozpouštění urychlováno náhradou kovových kationtů za protony a tvorbou silanolů  $\equiv\text{Si-OH}$  (viz kapitolu 3.3.1.1 **Error! Bookmark not defined.**) a v zásaditém prostředí je zase stabilizována skupina  $\equiv\text{Si-O}^-$ . Oba jevy snižují aktivační energii přerušení vazby  $\equiv\text{Si-O-Si}\equiv$ ,  $\equiv\text{Si-O-Al}$  či  $\equiv\text{Si-O-Fe}$ .

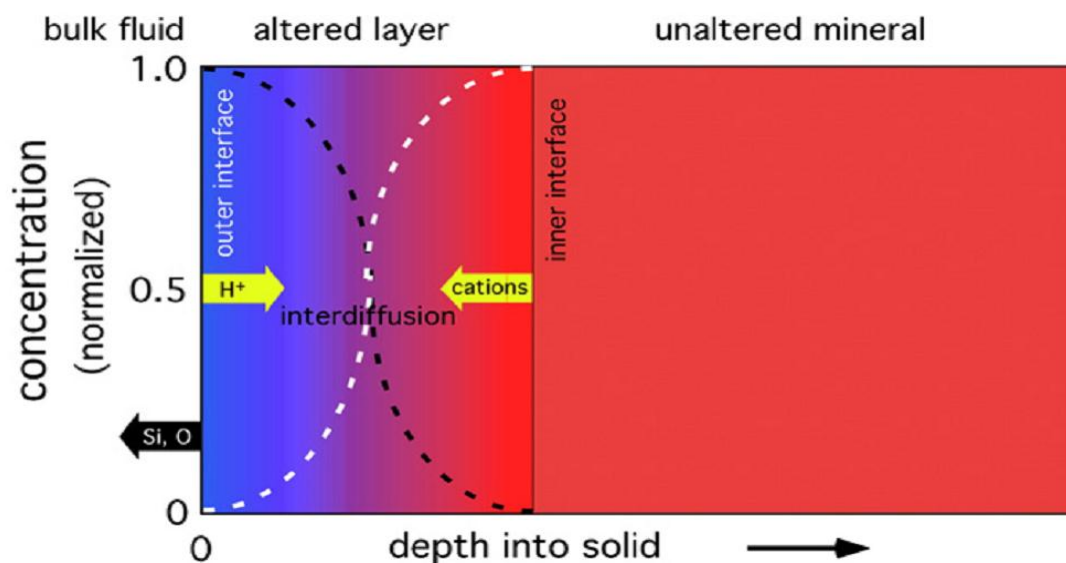
Bakterie mohou pH ovlivňovat tvorbou organických i anorganických kyselin. Organické kyseliny působí nejen prostřednictvím sníženého pH, mohou zároveň hrát roli komplexačních činidel, zvláště mají-li více funkčních skupin (viz kapitolu 3.3.2.). To dokládá například pozorování (Welch, Ullman, 1993), při kterém bylo rozpouštění plagioklasu roztokem organických kyselin desetinásobně rychlejší, než rozpouštění roztokem anorganických kyselin o stejném pH.

Produkce organických kyselin může být cílená, nebo se může jednat o metabolické meziprodukty, nebo konečné produkty fermentace apod. Konkrétně to mohou být například kyselina fumarová, citronová, šťavelová, mléčná, pyrohroznová, nebo octová (Balland et al., 2010).

Mikroorganismy často mění pH pouze lokálně. Toho lze docílit například vazbou organických kyselin v buněčné stěně, či tvorbou biofilmu a alterací pH pouze v malém objemu mezi povrchem minerálu a biofilmem. Velikost změny pH, kterou jsou mikroorganismy schopny nastolit je úctyhodná. Např. (Brehm et al., 2005) pozorovali pod biofilmem bakterií a řas na křemenu nárůst pH z 3,5 na 9.

##### 3.3.1.1. Kyselá katalýza

V kyselém prostředí jsou z povrchové vrstvy minerálu uvolňovány kationty náhradou za protony. Tato vrstva tím získává složení, pozměněné vůči původnímu. Především dochází k relativnímu obohacení o Si a ochuzení o Na, K (viz Obr. 5; Brantley, 2003). Silanoly, vzniklé náhradou kovových kationtů za protony se mohou postupně uvolňovat do roztoku v monomerní i polymerní formě, nebo mohou přímo na povrchu minerálu rekondenzovat na siloxany a tvořit jílové minerály, či amorfni fáze bez přechodného rozpouštění (Brantley, 2003; Hellmann et al., 2011). Mocnost vymyté vrstvy obecně stoupá s klesajícím pH (Brantley, 2003), které se může ustanovit například pod biofilmem.



Obr. 5: Kyselé katalýza

Převzato od Hellmann et al. (2011). Vznik amorfni povrchové přeměněné vrstvy náhradou kovových kationtů (bílá křivka) za protony (černá křivka). Vymytá vrstva je reliktní strukturou, která přímo přechází v matečný minerál. Její mocnost je regulována na vnitřním rozhraní rychlostí difuze a na vnějším rozhraní rychlostí odbourávání zbytků křemičitanové kostry.

### 3.3.2. Komplexace

Vliv komplexace na rozpouštění minerálu je zprostředkován dvěma jevy. Za první komplexace produktů rozpouštění snižuje jejich koncentraci a tím posouvá rovnováhu rozpouštěcí reakce a za druhé komplexace povrchových iontů krystalové mřížky snižuje aktivační energii, kterou je nutno překonat pro uvolnění iontu do roztoku. Tím pozitivně ovlivňuje rychlost povrchové reakce, která obvykle bývá u silikátů krokem určujícím rychlost rozpouštění.

Komplexační činidla produkovaná bakteriemi mohou být organické kyseliny, exopolysacharidy buněčné stěny, či siderofory. Z organických kyselin jsou nejúčinnější ty vícetyčné, jako třeba kyselina šťavelová nebo citronová.

Mnoho studií je věnováno úloze sideroforů při rozpouštění silikátů. Siderofory jsou různorodé nízkomolekulární látky, schopné chelátovat  $\text{Fe}^{3+}$  (Neilands, 1995). Většina mikroorganismů potřebuje k růstu koncentraci rozpuštěného železa v řádu  $10^{-7}$  -  $10^{-5}$  M (Lemanceau et al. 2009; Neilands 1995). V nekyselých aerobních podmínkách namísto dobře rozpustného  $\text{Fe}^{2+}$  iontu převažuje iont  $\text{Fe}^{3+}$ , který tvoří špatně rozpustné hydroxidy, oxihydroxidy a oxidy. Nízká rozpustnost železitých minerálů limituje rovnovážnou koncentraci rozpuštěných forem železa v anorganických roztocích za neutrálního pH až na  $\sim 10^{-18}$  M (Neilands, 1995). Pro překonání těchto přibližně deseti řádů, v rozdílu potřebné a dostupné koncentrace rozpuštěných forem železa, produkuje mnoho mikroorganismů velké množství různých sideroforů. Siderofory tak podporují rozpouštění sekundárních železitých minerálů, ale i běžných primárních horninotvorných silikátů obsahujících železo: olivíny, pyroxeny, amfiboly a biotit (Buss et al., 2007).

### 3.3.3. Redoxní přeměny

Rozpouštění minerálu může být podporováno redukcí či oxidací některé z jeho složek. Změna oxidačního stupně některé komponenty minerálu pozmění její vazby v krystalové mřížce a minerál přestane být stabilní. Opětná stabilizace může nastat uvolněním jednotlivých složek do prostředí, případně přeorganizováním krystalové mřížky a tvorbou sekundárních minerálů.

Další možností je redoxní odbourání některého z produktů rozpouštění v roztoku, snížení jeho koncentrace a tedy posun rovnováhy.

#### 3.3.3.1. Oxidativní rozpouštění (viz Obr. 6)

Oxidativní rozpouštění je možné především u minerálů, které obsahují  $\text{Fe}^{2+}$  (např. pyroxeny). Podle současných poznatků je patrně oxidativní rozpouštění mnohem méně významné, než redukční. Patrně z toho důvodu, že redoxní pár  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$  má za neutrálního pH velmi nízký redukční potenciál (viz Obr. 1), tudíž je  $\text{Fe}^{2+}$  špatným elektronovým donorem. V obvyklých prostředích rozpouštění silikátů nebývá nouze o lepší zdroje redukčního ekvivalentu. Zajímavou a po chemické stránce velmi precizní práci na toto téma je (Benzerara et al., 2005), která zkoumá oxidaci železa z pyroxenu neznámým vláknitým mikroorganismem. Tato práce ukazuje obdivuhodně detailní charakterizaci mikroprostředí, ve kterém k oxidaci došlo. Je však také zatížena nedostatkem v podobě nemožnosti určení mikroorganismu.



Obr. 6: Oxidace železa

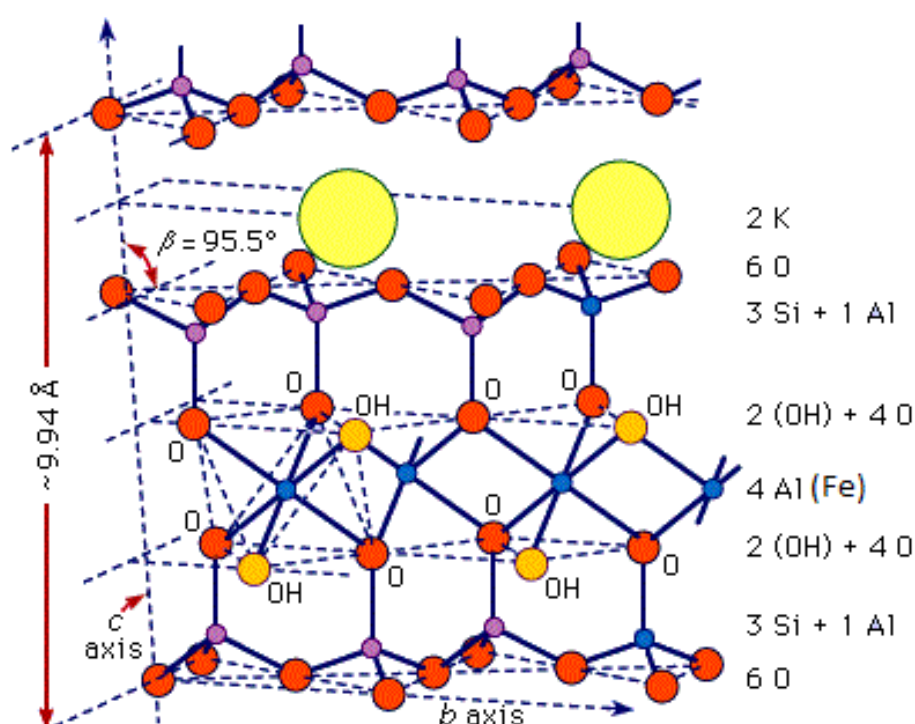
Kresba Máří Mikšaníkové. Příklad alternativního metabolismu, obcházení glykolýzy.



### 3.3.3.2. Reduktivní rozpouštění

Prakticky jedinou biologicky redukovatelnou běžnou složkou silikátů je železo, které bývá přítomno jako izomorfní náhrada hliníku přímo v hlinitokřemičitanové kostře (viz Obr. 7) (Rengasamy et al., 1975). Železitý iont může být buď nejprve vytrhnut z krystalové mřížky nějakým komplexačním činidlem (např. sideroforem) a redukován až po přijetí do buňky, nebo může být redukován přímo na povrchu minerálu a tím uvolněn do roztoku jako  $\text{Fe}^{2+}$ .

Regenerace sideroforů probíhá právě reduktivním mechanismem za účasti membránového enzymu ferireduktázy vně, nebo uvnitř buňky. Tento mechanismus je účinný díky tomu, že jsou komplexy sideroforů s  $\text{Fe}^{2+}$  mnohem slabší, než jejich komplexy s  $\text{Fe}^{3+}$  (Neilands, 1995). Po redukci se tedy železnatý iont z molekuly sideroforu snadno uvolní.



Obr. 7: Železo v kontextu struktury slídy

Převzato z (ANON., b.r.). Schema zobrazuje jednu základní strukturní vrstvu, vyměnitelné kationty a část další vrstvy v krystalové mřížce biotitu, kde jsou jony železa koordinovány v oktaedrální vrstvě.



### 3.3.3.2.1. Disimilativní redukce $\text{Fe}^{3+}$

Je už dlouho prokázáno, že  $\text{Fe}^{3+}$  využívá mnoho bakteriálních druhů jako terminální akceptor elektronů energetického metabolismu při utilizaci organických látek (Lovley, Phillips, 1988; Bennett et al., 1993). Dodnes však není plně znám mechanismus získávání železa pro tento účel. Já se zde pokusím nastínit, proč není možné získávat  $\text{Fe}^{3+}$  pro disimilaci prostřednictvím sideroforů:

Energie vazby sideroforu s  $\text{Fe}^{3+}$  je možno vyjádřit jako pokles redukčního potenciálu oproti volnému železitému iontu. V případě velmi silných sideroforů je vysoká energie vazby s železitým iontem, a hluboká termodynamická jáma stabilizující komplex, kompenzována poklesem redukčního potenciálu komplexu  $\text{Fe}^{3+}$ -siderofor. Standardní redukční potenciál páru  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$  v roztoku je +770 mV. V komplexu se sideroforem se pohybuje od -82 mV do -990mV. Z toho vyplývá nutnost použití silnějších redukčních činidel na uvolnění železa ze sideroforu (Schröder et al., 2003; Harrington, Crumbliss, 2009). Je nasnadě, že v takovém případě musí být disociace komplexu spřažena s nějakým vysokoafinním transportním systémem nebo s využitím membránového potenciálu. Proto není možné využívat železité inoty, získané prostřednictvím sideroforů, disimilativně, jako konečný akceptor elektronů energetického metabolismu, neboť mají v komplexu příliš nízký redukční potenciál a reakce není energeticky výhodná a nemůže tedy sloužit k tvorbě membránového potenciálu. Tento efekt se projeví u všech komplexačních činidel v míře závislé na síle komplexantu (velikosti disociační energie komplexu). Dá se tedy předpokládat, že bude v bakteriálním světě vyvinuta široká škála různě silných komplexačních činidel tak, aby bakterie mohly odpovídat na dostupnost železa adekvátním způsobem. Skutečnost, že dýchání  $\text{Fe}^{3+}$  není závislé na sideroforech, prokázali (Fennessey, Jones, 2010) u bakterie *Shewanella oneidensis* vyřazením biosyntetické dráhy sideroforu. Autoři se domnívají, že *S. oneidensis* získává železo pro tento účel prostřednictvím citrátu.

Primárním cílem pro získání železa k disimilaci jsou sekundární minerály železa (ferrihydrit, hematit, goethit) a silikáty se s nimi „jen svezou“. Toto tvrzení potvrzuje například práce (Bennett et al., 1993), kde autoři ověřili urychlený rozklad mikroklinu, anortoklasu a křemene spojený s mikrobiální kolonizací v půdě kontaminované ropou, kde probíhala disimilativní redukce železa. V kontrolním prostředí bez ropné kontaminace a disimilativní redukce železa rozklad nepozorovali. To znamená, že je rozpouštění silikátů v takovém případě pravděpodobně jen vedlejším efektem, ale je při tom dostatečně účinné, aby hrálo důležitou roli v půdotvorném procesu a v celkovém cyklu prvků.

Redukce železa přímo na povrchu krystalové mřížky minerálu je možná prostřednictvím nedávno objevených elektricky vodivých proteinových nano-vláken (Malvankar, Lovley, 2012). Tato vlákna, produkováná bakterií *Geobacter sulfurreducens*, jsou vůbec první v přírodě objevenou proteinovou strukturou, která vykazuje kovovou vodivost. Taková vlákna představují převratný objev v biologickém přenosu elektronů extracelulárně, na delší vzdálenosti, na extracelulární elektronové akceptory, nebo třeba i skrz biofilm.

### **3.4. *Paenibacillus mucilaginosus***

Jedním z nejlépe prozkoumaných případů bakteriálního rozpouštění silikátů je schopnost bakterie *Paenibacillus mucilaginosus* využívat slídy jako zdroj draslíku. V prostředí s nedostatkem draslíku uvolňuje *P. mucilaginosus* ze slídy  $K^+$  a  $SiO_2$  (Liu et al., 2006)

Podle dosavadních zjištění podporuje *P. mucilaginosus* rozpouštění slídy produkcí organických kyselin, například kyseliny šťavelové a citronové. Polysacharidy buněčné stěny ochotně adsorbují tyto organické kyseliny. To umožňuje snížit pH selektivně v bezprostředním okolí bakteriální buňky a efektivně rozpouštět minerál, ke kterému je přisedlá. Zároveň jsou exopolysacharidy schopné vázat  $SiO_2$ . To vede k snížení koncentrace volného  $SiO_2$ , čímž dochází k posunu rovnováhy reakce směrem k rozpouštění. Tato funkce exopolysacharidů se mimo jiné projevuje silicifikací buněčné stěny (Liu et al., 2006). Celkově je ale mechanismus účinku *P. mucilaginosus* na rozpouštění slídy stále ještě nejasný.

Výzkum v této oblasti už postoupil i k praktickým pokusům, v nichž se úspěšně daří hnojení půd, chudých na draslík, slídou zaočkovanou *P. mucilaginosus* (HS Han, Lee, 2006; Basak, Biswas, 2008). V brzké budoucnosti se dá předpokládat komerční využití odpadních slíd společně s *P. mucilaginosus*, jako nové formy draselného hnojiva.

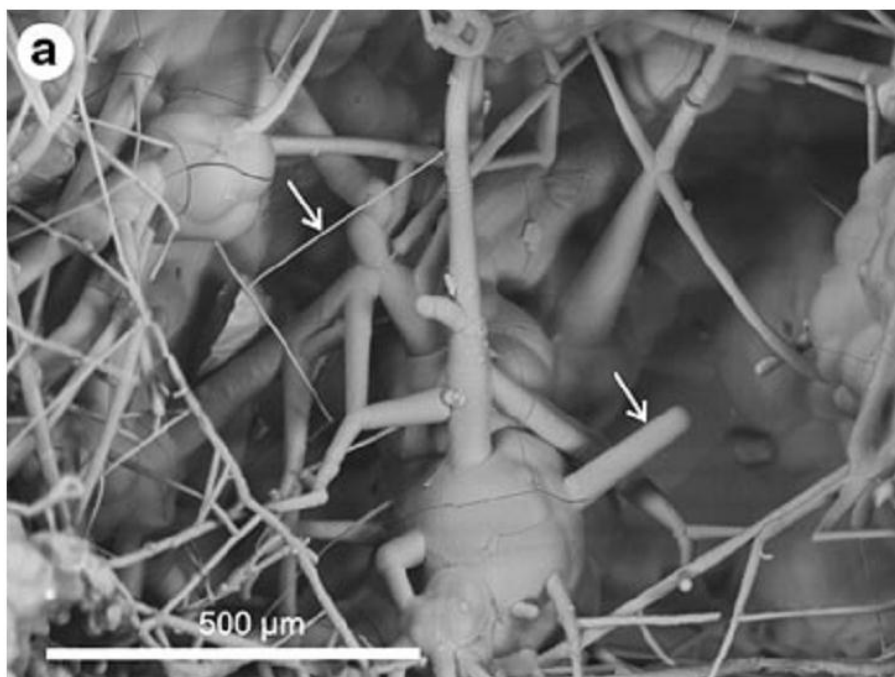
## **4. Jak se to pozná? ...stopy bakteriálních přeměn silikátů**

### **4.1. Morfologie minerálu**

#### **4.1.1. Fosilie**

K fosilizaci bakterií dochází jen za velmi specifických podmínek a když už se podaří nalézt fosilizované struktury připomínající bakterie, není obvykle snadné prokázat, že se nejedná o abioticky vzniklé útvary. V unikátních případech se najdou velmi dobře zachované fosilie jednotlivých buněk (viz Obr. 8).

Amores a Warren (2009) na živých buňkách pozorovali přednostní silicifikaci na jednom pólu buňky, což vysvětlují potřebou ponechat alespoň část buněčné stěny bez silicifikace, aby zůstaly zachovány její fyziologické funkce. Tento pattern nerovnoměrné silicifikace by mohl zůstat fosilizován v sedimentu i po geologicky relevantní dobu jakožto specifický „podpis“ bakteriální činnosti.



**Obr. 8: Bakteriální fosilie**

SEM, převzato od Cabral et al., (2011). Opálová vlákna v kavitě zvětřalého oblázkového křemence připomínají hyfové struktury. Pravděpodobně se jedná o mikrobiální vlákna pučících bakterií, jejichž buňky byly kromě opálu fosilizované ještě hematitem.

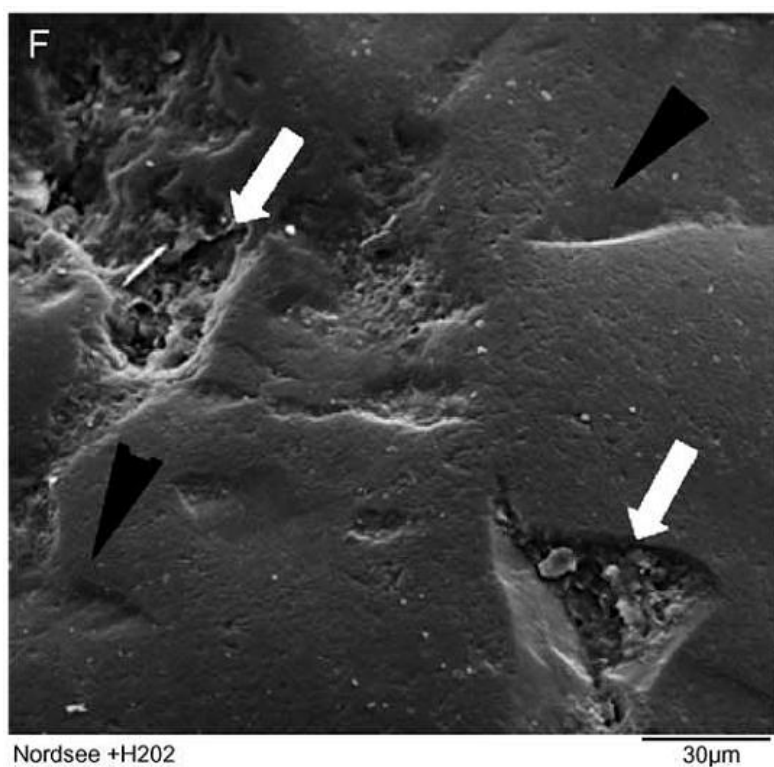
#### **4.1.2. Mikrobiálně indukované sedimentární struktury (MISS)**

MISS vznikají biogenním srážením a zachytáváním částecek silikátů v bakteriálním matu (Noffke, 2009). Podobným způsobem jsou utvářeny stromatolity s tím rozdílem, že stromatolity jsou tvořeny převážně uhlčitany a ne silikáty, jako MISS. Ač se dají stromatolity a MISS považovat za analogické struktury, vyznačují se značně rozdílnou morfologií. MISS mohou mít podobu různě zvlněných facií v sedimentu. Přesná kriteria pro rozeznání MISS definuje Noffke (2009).

#### **4.1.3. Leptové jamky**

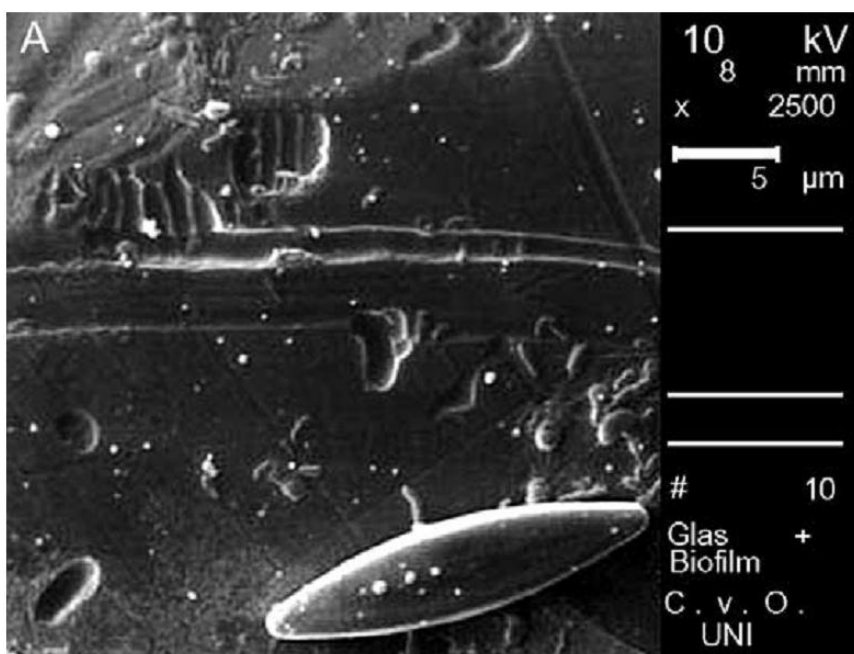
Buss et al. (2007) pozorovali odlišný způsob formování leptových jamek při mikrobiální kolonizaci a abiotickém rozpouštění. Při nastavení podmínek tak, aby byl rozsah biotického i abiotického rozpouštění ekvivalentní, se na povrchu abioticky rozpouštěného minerálu zakládalo velké množství malých leptových jamek, kdežto pod biofilmem bylo méně větších jamek.

V případě, že bakterie posunují podmínky povrchové reakce směrem od rovnováhy, dá se očekávat častější zakládání leptových jamek, které pozorovali Maurice et al. (2002). Některé studie konstatují pozitivní korelaci rozmístění leptových jamek s topografií kolonizace bakteriemi (Bennett et al., 1996). Na některých amorfních látkách, jako je sklo nebo některé vyvřeliny, můžou leptové jamky nabývat tvarů jednotlivých buněk, které je vyleptaly (Brehm et al., 2005; viz Obr. 10).



**Obr. 9: Leptové jamky**

SEM, převzato z Brehm et al. (2005). Na obrázku lze porovnat povrch křemenného zrna s typickými leptovými jamkami vzniklými působením okolního roztoku (černé šipky) a pod biofilmem s převahou sinic (bílé šipky). Je dobře patrné, že pod biofilmem se vytvořily leptové jamky mnohem větší a vyšší rychlost rozpouštění zde vedla ke vzniku rozsáhlých vhloubenin.



**Obr. 10: Otisky mikroorganismů na skle**

Převzato z Brehm et al. (2005). Jamky vytvořené pod biofilmem bakterií, sinic a rozsivek na povrchu okenní tabule velmi dobře odpovídají tvaru jednotlivých buněk. V pravém dolním rohu obrázku zůstala jedna rozsívka nesmytá.

## 4.2. Izotopová frakcionace

Většina prvků je v přírodě zastoupena několika stabilními izotopy. Vzhledem k odlišným hmotnostem a mírně rozdílným chemickým vlastnostem izotopů jednoho prvku, lze očekávat jejich rozdílnou ochotu podstupovat konkrétní chemické reakce. Z toho vyplývají rozdílné poměry zastoupení jednotlivých izotopů v reaktantech a v produktech. Tento jev se nazývá izotopová frakcionace.

Mnoho experimentů prokázalo posun izotopového složení fází, týkajících se geochemických procesů (matečný minerál, okolní roztok, komplexy s organickými ligandy, sekundární minerály, jednotlivé redoxní stavy), za účasti bakterií a bez nich (Rudnicki, Elderfield, Spiro 2001; Brantley 2004; Liermann et al. 2007; Herbert and Schippers 2008; Wimpenny et al. 2010; Kiczka et al. 2011). Je tedy na snadě, že se v izotopové analýze reaktantů a produktů geochemických reakcí nepochybně skrývá další potenciální nástroj pro odlišení biologických a abiotických pochodů. Nejprve je ale nutné prozkoumat a lépe pochopit které faktory mají na izotopovou frakcionaci vliv a kterým směrem ji posouvají.

K izotopové frakcionaci dochází při geochemických a geobiologických procesech jak kinetickým, tak termodynamickým mechanismem (Brantley, 2004). Na vzniku disproporčního poměru obsahu izotopů v jednotlivých zúčastněných fázích se podílejí dva hlavní mechanismy (Young, Galy, 2002):

### kinetický izotopový efekt

Uplatňuje se v reakcích, které probíhají daleko od rovnováhy. Lehčí izotop tvoří slabší vazbu, tudíž reaktanty, jež jej obsahují vykazují nižší aktivační energii a tedy i vyšší hodnotu rychlostní konstanty reakce. Probíhá-li reakce v roztoku, pak se projeví také jejich snadnější difuze. Kinetický izotopový efekt tedy obohacuje produkty reakce o lehčí izotopy.

### rovnovážný izotopový efekt

Těžší izotop tvoří ve sloučeninách silnější vazby. Příčiny jsou kvantově mechanické povahy. Plné odvození uvádějí ve svém článku Young a Galy (2002). Rovnovážná frakcionace izotopů mezi zúčastněné fáze je závislá pouze na rozdílech energií vazeb jednotlivých izotopů ve sloučeninách. Vzhledem k tomu, že jsou tyto energetické rozdíly poměrně malé, ustavuje se v uzavřeném systému izotopová rovnováha řádově pomaleji než rovnováha chemická.

Pro výpočet příspěvku rovnovážného izotopového efektu k celkové izotopové frakcionaci existují uspokojivě přesné modely, na jejichž vstupu je třeba znát pouze hmotnosti jader izotopů, z nichž se vypočítají frekvence vibračních stavů atomů v chemické vazbě a energie dané vazby, na níž závisí rovnovážná konstanta, která je rozdílná pro jednotlivé izotopy (Young, Galy, 2002).

Na rozdíl od rovnovážného, závisí příspěvek kinetického izotopového efektu na mechanismu reakce. Vzhledem k tomu, že se reakce přeměn silikátů, zvláště jsou-li zprostředkované živými organismy, skládají z mnoha elementárních reakcí, jejichž mechanismy jsou zatím velmi zřídka

známy, nelze kinetickou izotopovou frakcionaci při rozpouštění silikátů uspokojivě předpovídat.

To je hlavní překážkou při využívání izotopových analýz pro kvantifikaci biologických vlivů na geochemické procesy. Dosavadní studie, které se věnují izotopové frakcionaci při mikrobiálním rozpouštění silikátů, sledují především izotopy železa a omezují se na závěry, že za určitých podmínek s určitými mikrobiálními kmeny k izotopové frakcionaci dochází (S Brantley, 2004; Herbert, Schippers, 2008; Kiczka et al., 2011).

### **4.3. Problém měřítek**

Půdy a horniny jsou vysoce porózní media, která jsou strukturně různorodá v širokém rozmezí časoprostorových měřítek. Jejich různorodost v mikroměřítku skýtá přehrášl mikro-habitátů, vykazujících různé selekční tlaky na mikrobiální společenstvo (Herrmann et al., 2007). Zkoumání vztahů v půdě je silně komplikováno faktem, že interakce mezi jednotlivými komponentami jsou na měřítku závislé (Ettema, Wardle, 2002). To znamená, že faktory, které silně ovlivňují mikrobiální společenstvo v určitém měřítku, mohou vykazovat značně snížený vliv při zkoumání společenstva v jiném měřítku.

V současnosti je běžně akceptován fakt, že bakterie v přirozeném prostředí žijí v biofilmech nebo jiných formách vícedruhových mnohobuněčných konsorcií (Shapiro, 1998), která si vytvářejí vnitřní prostředí výrazně odlišné od okolí. Uvnitř mikrobiálního nárůstu tedy může panovat zcela jiné pH, Eh, koncentrace iontů nebo kyslíku, než jaké naměříme klasickými metodami ve větším vzorku.

Pokrok v geomikrobiologii je částečně bržděn nedostatkem vhodných metod o uspokojivé citlivosti pro sběr dat na úrovni mikroměřítek (Herrmann et al., 2007).

## 5. Závěr

Rozpouštění silikátových minerálů probíhá v běžných podmínkách daleko od rovnováhy a jeho rychlost je limitována rychlostí povrchové reakce. Bakterie disponují širokou škálou nástrojů, kterými mohou jednak snižovat aktivační energii povrchové reakce a jednak snižovat koncentraci jejích produktů a posouvat její rovnováhu. Oběma těmito mechanismy se urychluje rozpouštění.

K posouvání rovnováhy povrchové reakce dochází komplexací jejích produktů, jejich srážením do sekundárních minerálů či jejich účasti v následné redoxní reakci.

Snižování aktivační energie povrchové reakce je možné prostřednictvím

- okyselení či alkalizace, k čemuž může docházet i velmi lokalizovaně na buněčné stěně nebo pod biofilmem,
- povrchové komplexace, na které se podílejí organické kyseliny, siderofory a jiná komplexační činidla,
- destabilizace struktury minerálu v důsledku redoxní přeměny některé z jeho složek.

Naprostá většina doposud publikovaných prací se věnuje zkoumání těchto jevů v makroskopickém měřítku (stovky miligramů až jednotky gramů). Výzvou současné geomikrobiologie je vývoj citlivých metod, které by umožnily měření fyzikálně chemických parametrů s dostatečně jemným prostorovým rozlišením na úrovni jediné bakteriální buňky a jejího bezprostředního okolí. Řešením tohoto problému je propojení analytických a zobrazovacích metod, což se v některých případech už daří (např. Benzerara et al., 2005). Dosud nevyřešeným problémem je určení druhu z jedné či několika málo buněk. V tom se dost možná skrývají převratné objevy podrobností mechanismů geochemických přeměn, ale i odhalení skutečných ekologických nároků jednotlivých bakteriálních druhů. Podmínky v jejich mikrohabitátech můžeme očekávat značně odlišné od hodnot, měřených v makroskopických objemech vzorků. Dále se můžeme dočkat odhalení specifických funkcí bakteriálních druhů v rámci společenstev, která jsme v současné době schopni zkoumat pouze jako celek.

Mikrobiální činnost může po sobě zanechávat stopy v podobě fosilií silicifikovaných buněčných stěn, specifického způsobu utváření leptových jamek, či izotopové frakcionace zúčastněných prvků.

Současná míra poznání nám dovoluje rozlišit stopy mikrobiální účasti na geochemických procesech jen ve velmi speciálních případech:

- detailní fosilizace,
- specifického způsobu utváření leptových jamek,
- specifické izotopové frakcionace,

pro které máme dostatek porovnatelných dat z biotických i abiotických reakcí při stejných podmínkách.

Ač současné metody již umožňují poznat diverzitu procesů i velkou většinu typů prostředí a minerálů, kterých se to týká, nedostatečné znalosti v rozeznávání stop po mikrobiální činnosti jsou hlavním důvodem, proč nejsme schopni odpovědět na naprosto fundamentální otázku geomikrobiologie: Nakolik probíhají pozorované geochemické procesy abioticky a jak velkou část mají na svědomí mikroorganismy? Dočkáme-li se odpovědi na tuto otázku, změní se dost možná naše představy o globálních cyklech prvků a o kinetice tvorby půd. Rovněž by se mohlo podařit objasnit roli bakterií při akumulaci nejrozumnějších sedimentárních hornin, které obsahují produkty zvětrávání silikátů, například rozsáhlá ložiska kaolínu na Karlovarsku.

Ač se v odborné literatuře často objevuje tvrzení, že vliv mikroorganismů na geochemické pochody je veliký, nikde jsem se nesetkal s pokusem o jeho kvantifikaci. Geomikrobiologická komunita rovněž tento problém reflektuje (Buss et al., 2007; Amundson et al., 2007). Z výše zmíněných důvodů jsem přesvědčen, že tento vliv může být obrovský, ale z principu nemůžeme vyloučit ani možnost, že je docela nepatrný. Nástroje pro jeho kvantifikaci nám prozatím chybí.



## 6. Literatura

- AMORES, Derek R. and Lesley a. WARREN. 2009. Metabolic patterning of biosilicification. *Chemical Geology* [online], roč. 268, č. 1-2, s. 81–88. [vid. 13. August 2012]. doi 10.1016/j.chemgeo.2009.07.013. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009254109003386>
- AMUNDSON, R., D. D. RICHTER, G. S. HUMPHREYS, E. G. JOBBAGY and J. GAILLARD. 2007. Coupling between Biota and Earth Materials in the Critical Zone. *Elements* [online], roč. 3, č. 5, s. 327–332. [vid. 14. August 2012]. Dostupné z: [http://apps.webofknowledge.com/CitedFullRecord.do?product=WOS&colName=WOS&SID=R12fD2DjLc5BiFb@GbH&search\\_mode=CitedFullRecord&isickref=WOS:000250859800005](http://apps.webofknowledge.com/CitedFullRecord.do?product=WOS&colName=WOS&SID=R12fD2DjLc5BiFb@GbH&search_mode=CitedFullRecord&isickref=WOS:000250859800005)
- ANON. DMS Mineral of the Month Page December 2007. [online]. b.r. [vid. 26. August 2012]. Dostupné z: [http://www.delminsociety.net/motm/motm\\_dec2007.shtml](http://www.delminsociety.net/motm/motm_dec2007.shtml)
- BAILEY, Brad, Alexis TEMPLETON, Hubert STAUDIGEL and Bradley M. TEBO. 2009. Utilization of Substrate Components during Basaltic Glass Colonization by *Pseudomonas* and *Shewanella* Isolates. *Geomicrobiology Journal* [online], roč. 26, č. 8, s. 648–656. [vid. 21. August 2012]. doi 10.1080/01490450903263376. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01490450903263376>
- BALLAND, C., A. POSZWA, C. LEYVAL and C. MUSTIN. 2010. Dissolution rates of phyllosilicates as a function of bacterial metabolic diversity. *Geochimica et Cosmochimica Acta* [online], roč. 74, č. 19, s. 5478–5493. [vid. 29. February 2012]. doi 10.1016/j.gca.2010.06.022. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016703710003637>
- BASAK, B. B. and D. R. BISWAS. 2008. Influence of potassium solubilizing microorganism (*Bacillus mucilaginosus*) and waste mica on potassium uptake dynamics by sudan grass (*Sorghum vulgare* Pers.) grown under two Alfisols. *Plant and Soil* [online], roč. 317, č. 1-2, s. 235–255. [vid. 31. July 2012]. doi 10.1007/s11104-008-9805-z. Dostupné z: <http://www.springerlink.com/index/10.1007/s11104-008-9805-z>
- BENNETT, PC, Wan Joo CHOI, JA ROBERTS, FK HIERBERT and William J ULLMAN. 1993. MICROBIAL METABOLISM, IRON REDUCTION, AND SILICATE DISSOLUTION: COUPLED PROCESSES IN MINERAL WEATHERING. In: S.l.: s.n.,
- BENNETT, Philip C, Franz K HIEBERT and Wan Joo CHOI. 1996. Microbial colonization and weathering of silicates in a petroleum-contaminated groundwater., roč. 132, s. 45–53.
- BENNETT, Philip C, JR ROGERS, WJ CHOI and FK HIEBERT. 2001. Silicates, silicate weathering, and microbial ecology. *Geomicrobiology Journal* [online], roč. 18, č. 1, s. 3–19. [vid. 24. February 2012]. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01490450151079734>
- BENZERARA, Karim, Tae Hyun YOON, Nicolas MENGUY, Tolek TYLISZCZAK and Gordon E BROWN. 2005. Nanoscale environments associated with bioweathering of a Mg-Fe-pyroxene.

*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online], roč. 102, č. 4, s. 979–82. doi 10.1073/pnas.0409029102. Dostupné z: [http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=545861&tool=pmcentrez&render\\_type=abstract](http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=545861&tool=pmcentrez&render_type=abstract)

BRANTLEY, S. 2004. Fe isotopic fractionation during mineral dissolution with and without bacteria1. *Geochimica et Cosmochimica Acta* [online], roč. 68, č. 15, s. 3189–3204. [vid. 6. April 2012]. doi 10.1016/j.gca.2004.01.023. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S001670370400122X>

BRANTLEY, SL. 2003. Reaction kinetics of primary rock-forming minerals under ambient conditions. *Treatise on geochemistry* [online], roč. 5, s. 73–117. [vid. 29. June 2012]. doi 10.1016/B0-08-043751-6/05075-1. Dostupné z: <http://adsabs.harvard.edu/abs/2003TrGeo...5...73B>

BREHM, Ulrike, Anna GORBUSHINA and Derek MOTTERSHEAD. 2005. The role of microorganisms and biofilms in the breakdown and dissolution of quartz and glass. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* [online], roč. 219, č. 1-2, s. 117–129. [vid. 1. August 2012]. doi 10.1016/j.palaeo.2004.10.017. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031018204005942>

BUSS, Heather L., Andreas LÜTTGE and Susan L. BRANTLEY. 2007. Etch pit formation on iron silicate surfaces during siderophore-promoted dissolution. *Chemical Geology* [online], roč. 240, č. 3-4, s. 326–342. [vid. 6. April 2012]. doi 10.1016/j.chemgeo.2007.03.003. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009254107001210>

CABRAL, Alexandre Raphael, Nikola KOGLIN, Antônio Augusto SEABRA GOMES and Bernd LEHMANN. 2011. Xenotime–hematite aggregates on opaline filaments: evidence for biomineralization in weathered siliciclastic rocks, Capanema, Quadrilátero Ferrífero of Minas Gerais, Brazil. *International Journal of Earth Sciences* [online], roč. 101, č. 1, s. 377–383. [vid. 26. July 2012]. doi 10.1007/s00531-011-0663-1. Dostupné z: <http://www.springerlink.com/index/10.1007/s00531-011-0663-1>

COLMER, A R and M E HINKLE. 1947. The Role of Microorganisms in Acid Mine Drainage: A Preliminary Report. *Science (New York, N.Y.)* [online], roč. 106, č. 2751, s. 253–6. [vid. 26. August 2012]. doi 10.1126/science.106.2751.253. Dostupné z: [http://apps.webofknowledge.com/full\\_record.do?product=WOS&search\\_mode=GeneralSearch&qid=1&SID=S15apk48HkDNP4Fd953&page=1&doc=2](http://apps.webofknowledge.com/full_record.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&qid=1&SID=S15apk48HkDNP4Fd953&page=1&doc=2)

DOVE, Patricia M, Nizhou HAN and James J DE YOREO. 2005. Mechanisms of classical crystal growth theory explain quartz and silicate dissolution behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online], roč. 102, č. 43, s. 15357–62. doi 10.1073/pnas.0507777102. Dostupné z: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1266142&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

- EHRlich, H. 1998. Geomicrobiology: its significance for geology. *Earth-Science Reviews* [online], roč. 45, č. 1-2, s. 45–60. doi 10.1016/S0012-8252(98)00034-8. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0012825298000348>
- EHRlich, Henry L. 1996. How microbes influence mineral growth and dissolution. *Chemical Geology* [online], roč. 132, č. 1-4, s. 5–9. [vid. 5. March 2012]. doi 10.1016/S0009-2541(96)00035-6. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009254196000356>
- ETTEMA, CH and DA WARDLE. 2002. Spatial soil ecology. *Trends in ecology & evolution* [online], roč. 17, č. 4, s. 177–183. [vid. 19. August 2012]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169534702024965>
- FENNESSEY, CM and ME JONES. 2010. Siderophores are not involved in Fe (III) solubilization during anaerobic Fe (III) respiration by *Shewanella oneidensis* MR-1. *Applied and ...* [online], č. lii. [vid. 24. August 2012]. doi 10.1128/AEM.03066-09. Dostupné z: <http://aem.asm.org/content/76/8/2425.short>
- HAN, HS and KD LEE. 2006. Effect of co-inoculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. *Plant soil and Environment* [online], roč. 2006, č. Gerke 1992, s. 130–136. [vid. 23. August 2012]. Dostupné z: <http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/50531.pdf>
- HARRINGTON, James M and Alvin L CRUMBLISS. 2009. The redox hypothesis in siderophore-mediated iron uptake. *Biometals : an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine* [online], roč. 22, č. 4, s. 679–89. [vid. 16. July 2012]. doi 10.1007/s10534-009-9233-4. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19357971>
- HAZEN, R. M., D. PAPINEAU, W. BLEEKER, R. T. DOWNS, J. M. FERRY, T. J. MCCOY, D. a. SVERJENSKY and H. YANG. 2008. Mineral evolution. *American Mineralogist* [online], roč. 93, č. 11-12, s. 1693–1720. [vid. 19. August 2012]. doi 10.2138/am.2008.2955. Dostupné z: <http://ammin.geoscienceworld.org/cgi/doi/10.2138/am.2008.2955>
- HELLMANN, Roland, Richard WIRTH, Damien DAVAL and JP BARNES. 2011. Unifying natural and laboratory chemical weathering with interfacial dissolution-reprecipitation: A study based on the nanometer-scale chemistry of fluid-silicate interfaces. *Chemical Geology* [online], roč. 294-295, s. 203–216. [vid. 29. June 2012]. doi 10.1016/j.chemgeo.2011.12.002. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemgeo.2011.12.002>
- HERBERT, Roger B and Axel SCHIPPERS. 2008. Iron isotope fractionation by biogeochemical processes in mine tailings. *Environmental science & technology* [online], roč. 42, č. 4, s. 1117–22. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18351081>
- HERRMANN, Anke M., Karl RITZ, Naoise NUNAN, Peta L. CLODE, Jennifer PETT-RIDGE, Matt R. KILBURN, Daniel V. MURPHY, Anthony G. O'DONNELL and Elizabeth a. STOCKDALE. 2007. Nano-scale secondary ion mass spectrometry — A new analytical tool in biogeochemistry and soil ecology: A review article. *Soil Biology and Biochemistry* [online], roč. 39, č. 8, s. 1835–1850.

[vid. 16. July 2012]. doi 10.1016/j.soilbio.2007.03.011. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S003807170700106X>

HINSINGER, Philippe, Claude PLASSARD and Benoît JAILLARD. 2006. Rhizosphere: A new frontier for soil biogeochemistry. *Journal of Geochemical Exploration* [online], roč. 88, č. 1-3, s. 210–213. [vid. 21. July 2012]. doi 10.1016/j.gexplo.2005.08.041. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0375674205001354>

HTTP://RRUFF.INFO/IMA/. IMA Mineral List with Database of Mineral Properties. [online]. b.r. [vid. 19. August 2012]. Dostupné z: <http://rruff.info/ima/>

HUTCHENS, Elena, Deirdre GLEESON, Frank MCDERMOTT, Raúl MIRANDA-CASOLUENGO and Nicholas CLIPSON. 2010. Meter-Scale Diversity of Microbial Communities on a Weathered Pegmatite Granite Outcrop in the Wicklow Mountains, Ireland; Evidence for Mineral Induced Selection? *Geomicrobiology Journal* [online], roč. 27, č. 1, s. 1–14. [vid. 15. July 2012]. doi 10.1080/01490450903232157. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01490450903232157>

IVANOV, M V and G I KARAVAIKO. 2004. [Geological microbiology]. *Mikrobiologiya* [online], roč. 73, č. 5, s. 581–97. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15595512>

KICZKA, Mirjam, Jan G. WIEDERHOLD, Jakob FROMMER, Andreas VOEGELIN, Stephan M. KRAEMER, Bernard BOURDON and Ruben KRETZSCHMAR. 2011. Iron speciation and isotope fractionation during silicate weathering and soil formation in an alpine glacier forefield chronosequence. *Geochimica et Cosmochimica Acta* [online], roč. 75, č. 19, s. 5559–5573. [vid. 15. July 2012]. doi 10.1016/j.gca.2011.07.008. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016703711003954>

KONHAUSER, Kurt O and Matilde M URRUTIA. 1999. Bacterial clay authigenesis: a common biogeochemical process. *Chemical Geology* [online], roč. 161, č. 4, s. 399–413. doi 10.1016/S0009-2541(99)00118-7. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009254199001187>

LEMANCEAU, Philippe, Petra BAUER, Stephan KRAEMER and Jean-François BRIAT. 2009. Iron dynamics in the rhizosphere as a case study for analyzing interactions between soils, plants and microbes. *Plant and Soil* [online], roč. 321, č. 1-2, s. 513–535. [vid. 14. March 2012]. doi 10.1007/s11104-009-0039-5. Dostupné z: <http://www.springerlink.com/index/10.1007/s11104-009-0039-5>

LIERMANN, Laura J., Elisabeth M. HAUSRATH, Ariel D. ANBAR and Susan L. BRANTLEY. 2007. Assimilatory and dissimilatory processes of microorganisms affecting metals in the environment. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* [online], roč. 22, č. 8, s. 867. [vid. 28. April 2012]. doi 10.1039/b705383e. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=b705383e>

LIU, Wuxing, Xushi XU, Xianghua WU, Qiyin YANG, Yongming LUO and Peter CHRISTIE. 2006. Decomposition of silicate minerals by *Bacillus mucilaginosus* in liquid culture. *Environmental*

*geochemistry and health* [online], roč. 28, č. 1-2, s. 133–40. [vid. 9. April 2012]. doi 10.1007/s10653-005-9022-0. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16528584>

LOVLEY, Derek R and Elizabeth J P PHILLIPS. 1988. Novel Mode of Microbial Energy Metabolism : Organic Carbon Oxidation Coupled to Dissimilatory Reduction of Iron or Manganese Novel Mode of Microbial Energy Metabolism : Organic Carbon Oxidation Coupled to Dissimilatory Reduction of Iron or Manganese. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, roč. 54, č. 6, s. 1472–1480.

MALVANKAR, NS and DR LOVLEY. 2012. Microbial nanowires: a new paradigm for biological electron transfer and bioelectronics. *ChemSusChem* [online], roč. 5, č. 6, s. 1039–46. [vid. 23. August 2012]. doi 10.1002/cssc.201100733. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22614997>

MAURICE, P.A., D.M. MCKNIGHT, L. LEFF, J.E. FULGHUM and M. GOOSEFF. 2002. Direct observations of aluminosilicate weathering in the hyporheic zone of an Antarctic Dry Valley stream. *Geochimica et Cosmochimica Acta* [online], roč. 66, č. 8, s. 1335–1347. [vid. 1. March 2012]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016703701008900>

NEILANDS, J B. 1995. Siderophores: structure and function of microbial iron transport compounds. *The Journal of biological chemistry* [online], roč. 270, č. 45, s. 26723–6. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7592901>

NOFFKE, Nora. 2009. The criteria for the biogenicity of microbially induced sedimentary structures (MISS) in Archean and younger, sandy deposits. *Earth-Science Reviews* [online], roč. 96, č. 3, s. 173–180. [vid. 19. July 2012]. doi 10.1016/j.earscirev.2008.08.002. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0012825208000883>

RENGASAMY, P, K MURTI and VAK SARMA. 1975. Isomorphous substitution of iron for aluminum in some soil kaolinites. *Clays and Clay Minerals* [online], roč. 23, č. 1973, s. 211–214. [vid. 24. August 2012]. Dostupné z: <http://www.clays.org/journal/archive/volume 23/23-3-211.pdf>

ROGERS, Jennifer Roberts and Philip C BENNETT. 2004. Mineral stimulation of subsurface microorganisms: release of limiting nutrients from silicates. *Chemical Geology* [online], roč. 203, č. 1-2, s. 91–108. [vid. 27. March 2012]. doi 10.1016/j.chemgeo.2003.09.001. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009254103002912>

RUDNICKI, MD, H ELDERFIELD and B SPIRO. 2001. Fractionation of sulfur isotopes during bacterial sulfate reduction in deep ocean sediments at elevated temperatures. *Geochimica et Cosmochimica Acta* [online], roč. 65, č. 5, s. 777–789. [vid. 21. August 2012]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016703700005792>

SCHRÖDER, Imke, Eric JOHNSON and S VRIES. 2003. Microbial ferric iron reductases. *FEMS microbiology reviews* [online], roč. 27, s. 427–447. [vid. 24. August 2012]. doi 10.1016/S0168-6445(03)00043-3. Dostupné z: [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1016/S0168-6445\(03\)00043-3/full](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1016/S0168-6445(03)00043-3/full)

- SHAPIRO, J A. 1998. Thinking about bacterial populations as multicellular organisms. *Annual review of microbiology* [online], roč. 52, s. 81–104. [vid. 20. July 2012]. doi 10.1146/annurev.micro.52.1.81. Dostupné z: [http://apps.webofknowledge.com/full\\_record.do?product=WOS&search\\_mode=GeneralSearch&qid=2&SID=W2DALLae8N8CffaMAL3&page=1&doc=1](http://apps.webofknowledge.com/full_record.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&qid=2&SID=W2DALLae8N8CffaMAL3&page=1&doc=1)
- SHENG, XF and LY HE. 2006. Solubilization of potassium-bearing minerals by a wild-type strain of *Bacillus edaphicus* and its mutants and increased potassium uptake by wheat. *Canadian journal of microbiology* [online], roč. 72, s. 66–72. [vid. 1. March 2012]. doi 10.1139/W05-117. Dostupné z: <http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/w05-117>
- SONG, W., N. OGAWA, C.T. OGUCHI, T. HATTA and Y. MATSUKURA. 2007. Effect of *Bacillus subtilis* on granite weathering: A laboratory experiment. *Catena* [online], roč. 70, č. 3, s. 275–281. [vid. 29. February 2012]. doi 10.1016/j.catena.2006.09.003. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0341816206001664>
- TAKENO, Naoto. 2005. *Atlas of Eh-pH diagrams. Intercomparison of thermodynamic databases. Geological Survey of Japan Open File Report No.419* [online]. S.I. National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Research Center for Deep Geological Environments. [vid. 23. April 2012]. Dostupné z: <http://www.gsj.jp/GDB/openfile/files/no0419/openfile419e.pdf>
- TUCK, V.a., R.G.J. EDYVEAN, J.M. WEST, K. BATEMAN, P. COOMBS, a.E. MILODOWSKI and J.a. MCKERVEY. 2006. Biologically induced clay formation in subsurface granitic environments. *Journal of Geochemical Exploration* [online], roč. 90, č. 1-2, s. 123–133. [vid. 21. February 2012]. doi 10.1016/j.gexplo.2005.09.007. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0375674205002347>
- WELCH, Susan A and William J ULLMAN. 1993. The effect of organic acids on plagioclase dissolution rates and stoichiometry. *Geochimica et Cosmochimica Acta* [online], roč. 57, č. 12, s. 2725–2736. [vid. 24. August 2012]. doi 10.1016/0016-7037(93)90386-B. Dostupné z: [http://apps.webofknowledge.com/full\\_record.do?product=WOS&search\\_mode=GeneralSearch&qid=13&SID=T1IOOa@6OppdLaloap&page=1&doc=1](http://apps.webofknowledge.com/full_record.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&qid=13&SID=T1IOOa@6OppdLaloap&page=1&doc=1)
- WIMPENNY, Josh, Sigurður R. GÍSLASON, Rachael H. JAMES, Abdelmouhcine GANNOUN, Philip a.E. POGGE VON STRANDMANN and Kevin W. BURTON. 2010. The behaviour of Li and Mg isotopes during primary phase dissolution and secondary mineral formation in basalt. *Geochimica et Cosmochimica Acta* [online], roč. 74, č. 18, s. 5259–5279. [vid. 15. April 2012]. doi 10.1016/j.gca.2010.06.028. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016703710003698>
- YOUNG, ED and A GALY. 2002. Kinetic and equilibrium mass-dependent isotope fractionation laws in nature and their geochemical and cosmochemical significance. *Geochimica et Cosmochimica Acta* [online], roč. 66, č. 6, s. 1095–1104. [vid. 15. July 2012]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016703701008328>